Министерство здравоохранения Республики Беларусь

«УТВЕРЖДАЮ»
Заместитель Министра
здравоохранения – Главный
государственный санитарный врач
Республики Беларусь

_____В.И.Качан
03 ____20 10 г.
Регистрационный № 072-0210

МЕТОДЫ САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ МИНЕРАЛЬНЫХ ВОД

Инструкция по применению

Учреждение-разработчик:
Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр гигиены»
Авторы: В.П. Филонов, И.А. Застенская, И.П. Щербинская, Л.А. Мельникова, Н.В. Дудчик, Т.С. Трешкова, О.Е. Шедикова, С.А. Янецкая, В.В.Трейлиб

Минск 2010

gost.e-ecolog.ru

ГЛАВА 1
НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1. Настоящая Инструкция определяет методы санитарно-микробиологического контроля минеральных вод в потребительской таре и транспортной упаковке, а также питьевых искусственно минерализованных вод, предназначенных для реализации потребителю в отношении ее эпидемической безопасности по показателям СанПиН «Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов», утвержденных постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 63 от 09.06.2009 г.

2. Настоящая Инструкция предназначена для органов и учреждений, осуществляющих государственный санитарный надзор, иных организаций, контролирующих качество минеральных вод.

ГЛАВА 2
ОТБОР И ПОДГОТОВКА ПРОБ

3. Отбор и подготовка проб – по ГОСТ 26668, ГОСТ 266669 или в соответствием с требованиями технического нормативно-правового акта на анализируемый продукт.

4. При анализе газированных вод отбирают необходимый для исследования объем в стерильную колбу с ватно-марлевой стерильной пробкой, встряхивают несколько раз и оставляют на 5-10 минут для дегазации.

ГЛАВА 3
АППАРАТУРА, РАСХОДНЫЕ МАТЕРИАЛЫ, ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ

5. Для проведения анализа применяют аппаратуру, материалы, реактивы по ГОСТ 10444.1, а также указанные ниже:

5.1. Аппаратура	Нормативная документация (СТБ, ГОСТ, ТУ и иные)
Термостат с рабочей температурой 24 ^{0}C с допустимой погрешностью ±1 ^{0}C	
Термостат с рабочей температурой 37 ^{0}C с допустимой погрешностью ±1 ^{0}C	
Термостат с рабочей температурой 45 ^{0}C с допустимой погрешностью ±1 ^{0}C	
Прибор для мембранной фильтрации под вакуумом с диаметром фильтрующей	

поверхности 35 или 47 мм и устройство для создания разрежения 0,5-1,0 атм	
Весы лабораторные общего назначения с метрологическими характеристиками с наибольшим пределом взвешивания 200 г, 2-го класса точности	ГОСТ 24104
Весы лабораторные общего назначения с метрологическими характеристиками с наибольшим пределом взвешивания 1 кг, 4-го класса точности	ГОСТ 24104
Термометр ртутный с диапазоном измерения от 0 до 50^{0}С, с ценой деления шкалы 0,5^{0}С	ГОСТ 13646-68
Водяная баня с автоматическим регулированием температуры (45±1)^{0}С	
pH-метр, обеспечивающий измерение с порогом чувствительности 0,01 pH, точность ±0,1pH	
Дистиллятор, обеспечивающий качество дистиллированной воды по ГОСТ 6709-72	
Стерилизатор суховоздушный для температурного режима (180^{0}С±5)^{0}С	
Стерилизатор паровой с рабочим давлением пара не более 0,22 МПа(2,2 кгс/см^2)	Правила устройства и безопасной эксплуатации сосудов работающих под давлением, утвержденные приказом-постановлением Министерства по чрезвычайным ситуациям РБ и Министерства труда РБ от 30 апреля 1998 г., № 33/45
Холодильники бытовые электрические с температурой в камере (6±2) ^{0}С	ГОСТ 26678-85
Прибор для счета колоний бактерий	
Лупа с двукратным увеличением	
Дозаторы пипеточные	ГОСТ 28311-89
Облучатель бактерицидный	ТУ РБ 14790891.001-95
Микроскоп световой биологический с увеличением 84-1350х	
5.2 Посуда лабораторная стеклянная.	
Пробирки (многоразового	ГОСТ 25336-82

или одноразового использования)	
Цилиндры, вместимостью 100-500 мл, или мензурки, вместимостью 250- 1000 мл	ГОСТ 1770-74
Колбы мерные вместимостью 100-1000 мл	
Чашки бактериологические (Петри)	ГОСТ 23932-90
Воронки стеклянные	ГОСТ 25336-82
Пипетки, вместимостью 1, 2, 5, 10 мл с ценой деления 0,1 мл	ГОСТ 29227-91
Стекла предметные	ГОСТ 9284-75
Стекла покровные	ГОСТ 6672-75
Ступка фарфоровая	
5.3. Расходные материалы	
Мембранные фильтры для микробиологических целей с диаметром пор не более 0,45 мкм и размером диска 35 или 47 мм или другие фильтрующие мембраны с аналогичной способностью фильтрации	
Индикаторы бумажные для определения pH в диапазоне 6-8 с интервалом определения 0,2	
Колпачки металлические	
Горелки газовые или спиртовки	ТУ РБ 600352183.002-2006
Петли бактериологические	
Пинцеты для работы с мембранными фильтрами	
Поплавки бактериологические	
Штативы для пробирок	
Емкости эмалированные	
Пробки разных размеров: силиконовые, резиновые и другие, стерилизуемые	ГОСТ 12026-76
Вата хлопковая медицинская гигроскопическая	ГОСТ 5556-81
Марля медицинская	ГОСТ 9412-93
Бумага фильтровальная лабораторная	ГОСТ 12026-76
Маркеры водостойкие	
Перчатки резиновые	
5.4. Химические реактивы.	
Спирт изобутиловый	ГОСТ 9536
Желчь сухая или натуральная	
Кислота соляная	ГОСТ 3118-77
Натрий хлористый	ГОСТ 4233-77

Натрий гидрат окиси	ГОСТ 4328-77
Спирт этиловый ректификованный технический	ГОСТ 18300-87
Спирт этиловый ректификованный технический	СТБ 1334-2003
Лактоза	ГОСТ 6038-74
Глюкоза	ГОСТ 6038-79
Сахароза	
Железо лимоннокислое	
Гипосульфит натрия	
Фуксин основной	
Калий фосфорно-кислый однозамещенный	ГОСТ 4198-75
Калий фосфорно-кислый двузамещенный	ГОСТ 2493-75
Натрий фосфорно-кислый двузамещенный безводный	ГОСТ 11773-76
Натрий фосфорно-кислый однозамещенный	ГОСТ 245-76
Магний хлористый 6-ти водный	ГОСТ 4209
2,3,5-трифенилтетразолий хлорид (ТТХ)	
Иод кристаллический	ГОСТ 4159-79
Калий иодистый	ГОСТ 4232-74
Фуксин кислый	
Кристаллический фиолетовый водорастворимый	
Метиловый фиолетовый	
Бриллиантовый зеленый	
Мочевина	ГОСТ 6691
Феноловый красный	
Метиловый фиолетовый	
Бромфеноловый синий	
Бромкрезоловый пурпурный	
Аргинин	
L- триптофан	
Параметиламинобензальдегид	
α-нафтол	
Кальций углекислый	
Натрий лимоннокислый трехзамещенный	
Натрий-аммоний фосфорнокислый	
Магния сернокислый	
Сухие агглютинирующие адсорбированные поливалентные сальмонеллезные сыворотки основных групп А, В, С, Д, Е и	

редких групп;	
Селенисто-кислый натрий	
Сухое обезжиренного молоко	
Гипосульфит натрия	
Масло иммерсионное для микроскопии	ГОСТ 13739-78
Гентамицина сульфат во флаконах по 0,08 г или в ампулах 1 или 2 мл водный раствор массовой долей 4%	
Неомицина сульфат во флаконах по 0,5 г (50000 е.а.) или в таблетках по 0,10 и 0,25 г	
Левомицин сукцинат растворимый (для инъекций) во флаконах по 0,5 и 1,0 г	
Бензилпенициллина натриевая соль или калиевая соль во флаконах по 250 000, 500 000, 1 000 000 е.а.	
Стрептомицина сульфат во флаконах по 0,25 г (250 000е.а.), 0,5 г (500 000 е.а.), или 1,0 г (1 000 000 е.а.)	
Стрептосульмицина сульфат во флаконах по 0,25 г , 0,5 г, или 1,0 г	
Стрептомицина хлоркальциевый комплекс во флаконах по 0,1, 0,2 или 0,5 г	
Дигидрострептомицина сульфат во флаконах по 0,25 г , 0,5 г, или 1,0 г	
Дигидрострептомицина пантотенат во флаконах по 0,25 г (250 000 е.а.), 0,5 г (500 000 е.а.), или 1,0 г (1 000 000 е.а.)	
Набор реактивов для окраски по Граму	ГОСТ 10444.1-84
5.5. Штаммы микроорганизмов	
Контрольный штамм бактерий рода *Salmonella,* не относящийся к тифозной группе	
5.6. Питательные среды	
Бульон Хоттингера	
Мясо-пептонный агар	
Мясо-пептонный бульон	
Среда Сабуро агаризованная	
Агар питательный сухой	
Сухой питательный бульон	
Мясной экстракт	
Дрожжевой экстракт	
Пептон сухой ферментативный	

бактериологический	
Висмут-сульфит агар	
Среда Плоскирева	
Питательная среда для выделения энтеробактерий, сухая (Эндо)	
Агар микробиологический	ГОСТ 17206-96
Среды Гисса с сахарами, сухие	
Системы индикаторные бумажные (СИБ)	
СИБ-лактоза	
СИБ-оксидаза	
СИБ-глюкоза	
Питательная среда для накопления сальмонелл, сухая (селенитовый бульон)	
Агар с эозин-метиленовым синим, сухой (среда Левина)	

Допускаются к использованию оборудование, расходные материалы, реактивы, питательные среды, диагностические препараты и системы для идентификации с аналогичными характеристиками, предназначенные для целей описываемых методов, разрешенные к применению в установленном порядке. При их использовании следует руководствоваться рекомендациями производителя.

6. Подготовка посуды и материалов.

Вся посуда, применяемая для микробиологического анализа, должна быть стерильной. Подготовку посуды и материалов следует проводить в соответствии с Методическим указаниями «Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды» № 11-10-1-2002, утвержденными Главным государственным санитарным врачом РБ 25 февраля 2002 г.

7. Приготовление растворов, реактивов и сред.

7.1. Приготовление растворов, реактивов и сред для определения мезофильных аэробных и факультативно-аэробных микроорганизмов

Мясо-пептонный агар: готовят по ГОСТ 10444.1 или используют сухие среды, которые готовят по прописи, указанной на этикетке.

7.2. Приготовление растворов и реактивов для определения бактерий группы кишечных палочек.

7.3. Щелочной раствор бромкрезолового пурпурного концентрацией 10 г/л: 1 г бромкрезолового пурпурного переносят в фарфоровую ступку с 19 мл раствора гидрата окиси натрия с (NaOH) = 0,1 моль/л и после растворения добавляют 80 мл дистиллированной воды.

7.4. Раствор бриллиантового зеленого концентрации 5 г/л: 0,5 г бриллиантового зеленого переносят в фарфоровую ступку и постепенно

растворяют в дистиллированной воде. Раствор переливают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят дистиллированной водой до метки.

7.5. Раствор генцианвиолета или кристаллического фиолетового, или метилового фиолетового концентрацией 10 г/л: 1 г одной из анилиновых красок переносят в фарфоровую ступку и постепенно растворяют в дистиллированной воде. Раствор переливают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят дистиллированной водой до метки.

7.6. Раствор фенолового красного концентрации 4 г /л: 0,4 г фенолового красного переносят в фарфоровую ступку и постепенно растворяют в дистиллированной воде. Раствор переливают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят дистиллированной водой до метки.

7.7. Приготовленные растворы красителей хранят в закрытом сосуде из темного стекла при комнатной температуре не более 3 мес.

7.8. Растворы и реактивы для окраски по Граму готовят по ГОСТ 10444.1

7.9. Агар лактозный с бриллиантовым зеленым и феноловым красным: 3,0 г мясного экстракта, 10,0 г пептона, 10,0 г лактозы, 5,0 г хлористого натрия, 0,5 г двузамещенного фосфорнокислого калия, 15,0 г агара добавляют к 1000 мл дистиллированной воды. Смесь нагревают до полного растворения компонентов, охлаждают и устанавливают pH так, чтобы после стерилизации он составлял при температуре 25^{0}С 7,0±0,1. Стерилизуют при температуре (115±1)^{0}С в течение 20 мин, затем охлаждают и добавляют 40 мл раствора фенолового красного и 2 мл раствора бриллиантового зеленого, тщательно перемешивают и разливают в стерильные чашки Петри, колбы или флаконы.

7.10. Бульон лактозный с бриллиантовым зеленым и желчью: 10,0 г пептона, 5,0 г лактозы, 6,45 г двузамещенного фосфорнокислого безводного натрия, 20,0 г сухой желчи или 200 мл натуральной желчи, 3 мл раствора бриллиантового зеленого добавляют к 1000 мл дистиллированной воды, тщательно перемешивают, нагревают на слабом огне до кипения, кипятят 1-2 мин, фильтруют через ватно-марлевый фильтр, затем охлаждают и устанавливают pH так, чтобы после стерилизации он составлял при температуре 25^{0}С 7,2±0,1. Среда не подлежит стерилизации в автоклаве, ее разливают с соблюдением правил асептики по 10 мл в стерильные пробирки с поплавками.

7.11. Бульон Мак-Конки: 20,0 г пептона, 10,0 г лактозы, 5,0 г хлористого натрия, 5,0 г сухой желчи или 50 мл натуральной желчи, 1 мл раствора бромкрезолового пурпурного, добавляют к 1000 мл воды, тщательно перемешивают, нагревают на слабом огне до кипения, кипятят 1-2 мин, фильтруют через ватно-марлевый фильтр, затем охлаждают и устанавливают pH так, чтобы после стерилизации он составлял при

температуре 25^0С 7,2±0,1. Среду разливают по 10 мл в пробирки с поплавками и стерилизуют при температуре $(121\pm1)^0$С в течение 15 мин.

7.12 Среда Кесслер: 10,0 г пептона, 2,5 г лактозы, 5,0 г сухой желчи или 50 мл натуральной желчи, 2 мл раствора кристаллического фиолетового или метилового фиолетового добавляют к 1000 мл воды, тщательно перемешивают, нагревают на слабом огне до кипения, кипятят 1-2 мин, фильтруют через ватно-марлевый фильтр, затем охлаждают и устанавливают pH так, чтобы после стерилизации он составлял при температуре 25^0С 7,3±0,2. Среду разливают по 10 мл в пробирки с поплавками и стерилизуют при температуре $(115\pm1)^0$С в течение 20 мин.

7.13. Среда Эндо: готовится из сухой среды по прописи на этикетке.

8. Приготовление растворов, реактивов и сред для определения бактерий рода *Salmonella*

8.1. Реактив Эрлиха: 1,0 г параметиламинобензальдегида растворяют в 95 мл этилового спирта объемной концентрации 96 % и прибавляют 80 мл концентрированной соляной кислоты (ρ=1,18–1,19 г/мл).

8.2. Реактив Ковача: перемешивают 5,0 г параметиламинобензальдегида, 25 мл концентрированной соляной кислоты и 75 мл изобутилового спирта.

8.3. Спиртовой раствор α-нафтола концентрации 50 г/мл: 5,0 г α-нафтола помещают в колбу вместимостью 100 мл, растворяют в этиловом спирте объемной концентрации 96 % и доводят раствор этиловым спиртом до метки. Раствор готовят непосредственно пред употреблением.

8.4. Раствор бриллиантового зеленого концентрации 5 г/л: 0,5 г бриллиантового зеленого переносят в фарфоровую ступку и постепенно растворяют в дистиллированной воде. Раствор переливают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят дистиллированной водой до метки.

8.5. Спиртовой раствор фенолового красного концентрации 2 г/л: 0,2 г фенолового красного переносят в колбу вместимостью 100 мл растворяют в этиловом спирте объемной концентрации 50 % и доводят раствор этиловым спиртом до метки.

8.6. Сухие агглютинирующие адсорбированные поливалентные сальмонеллезные сыворотки готовят перед употреблением по прописи, указанной в прилагаемом к ним наставлении.

8.7. Забуференная пептонная вода: 10,0 г пептона, 5,0 г хлористого натрия, 9,0 г двузамещенного фосфорнокислого натрия, 1,5 г однозамещенного фосфорнокислого калия растворяют в 1000 мл дистиллированной воды, устанавливают pH, чтобы после стерилизации он составлял при температуре 25^0С 7,0±0,1. Разливают по колбам в количестве, зависящем от объема анализируемого образца, в соотношении 1:9, и стерилизуют при температуре $(121\pm1)^0$С в течение 20 мин.

8.8. Магниевая среда: готовят путем соединения трех растворов.

Приготовление раствора 1: 8, 4 г пептона, 14,3 г хлористого натрия, 40 мл дрожжевого экстракта 2,85 г однозамещенного фосфорнокислого калия растворяют при нагревании в 1780 мл дистиллированной воды.

Приготовление раствора 2: 71,4 г хлористого магния растворяют при нагревании в 180 мл дистиллированной воды.

Раствор 3: берут 1,8 мл раствора бриллиантового зеленого.

Приготовленные растворы соединяют, устанавливают pH так, чтобы после стерилизации он составлял при температуре 25^0C 7,20±0,2. Разливают по колбам или флаконам по 100 мл и стерилизуют при температуре $(112±1)^0$C в течение 30 мин.

8.9. Селенитовая среда: готовят из двух растворов.

Приготовление раствора 1: 5,0 г пептона, 7,0 г двузамещенного фосфорнокислого натрия, 3,0 г безводного однозамещенного фосфорнокислого натрия, 4,0 г лактозы растворяют при нагревании в 1000 мл дистиллированной воды, охлаждают до 45-55^{0}C. Если необходимо, путем изменения соотношения фосфатных солей устанавливают pH 7,0±0,12. Разливают по колбам или флаконам по 100 мл и стерилизуют текучим паром по 30 мин в течение двух дней или при температуре $(112±1)^0$C в течение 30 мин.

Приготовление раствора 2: 10,0 г кислого селенисто-кислого натрия растворяют асептически в 100 мл стерильной дистиллированной воды. Раствор готовят непосредственно перед употреблением.

Приготовление среды: к 100 мл раствора 1 прибавляют 4 мл раствора 2.

Стерилизация приготовленной среды не допускается, так как при этом происходит редукция кислого селенисто-кислого натрия, выпадает осадок красного цвета и среда становится непригодной.

8.10. Тетратионатная среда (Мюллер-Кауфман).

Приготовление основы среды: в 100 мл мясо-пептонного бульона помещают 4,5 г углекислого кальция.

Приготовленную основу стерилизуют при температуре $(112±1)^0$C в течение 20 мин.

При приготовлении среды к 100 мл основы среды асептически прибавляют 10 мл раствора гипосульфита натрия, 2 мл иодного раствора, 0,2 мл раствора бриллиантового зеленого, 5 мл раствора желчи.

Указанные растворы прибавляются к основе среды в указанном порядке, перемешивая смесь после каждого прибавления.

Среду допускается использовать в течение 1 недели после приготовления.

Указанные выше растворы готовят следующим образом.

Для приготовления раствор гипосульфита натрия 50 г гипосульфита натрия помещают в колбу на 100 мл, растворяют в дистиллированной воде и доводят водой до метки. Раствор переливают в колбу или флакон и стерилизуют текучим паром в течение 30 мин или при температуре (112±1)^{0}С в течение 20 мин.

Для приготовления иодного раствора 25 г иодида калия помещают в колбу на 100 мл, растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды, добавляют 20 г кристаллического иода, растворяют его. Объем раствора доводят до метки дистиллированной водой. Хранят в плотно закрытой непрозрачной посуде.

Для приготовления раствора желчи 10 г сухой желчи растворяют в 100 мл дистиллированной воды или используют натуральную желчь. Раствор желчи или натуральную желчь стерилизуют при температуре (121±1)^{0}С в течение 20 мин.

8.11. Трехсахарный агар: 10,0 г пептона, 3,0 г дрожжевого экстракта или 15 мл дрожжевого экстракта, 10,0 г лактозы 10,0 г сахарозы, 1,0 г глюкозы, 0,3 г железа лимоннокислого, 0,3 г гипосульфита натрия, 6 мл фенолового красного, 15,0 г агара растворяют при нагревании в 1000 мл мясо-пептонного бульона, охлаждают до 45-55^{0}С и устанавливают pH так, чтобы после стерилизации он составлял при температуре 25^{0}С 7,2±0,2. Разливают в пробирки по 6-7 мл и стерилизуют при температуре (121±1)^{0}С в течение 10 мин.

8.12. Агар Кристенсена с мочевиной: среда готовится путем соединения основы среды и раствора мочевины.

Основа среды: 1,0 г пептона, 1,0 г глюкозы, 5,0 г хлористого натрия, 2,0 г безводного однозамещенного фосфорнокислого калия, 3 мл раствора фенолового красного, 15,0 г агара растворяют при нагревании в 1000 мл дистиллированной воды, охлаждают до 45-55^{0}С и устанавливают pH так, чтобы после стерилизации он составлял при температуре 25^{0}С 6,7±0,1.

Основу среды мерно разливают в колбы или флаконы и стерилизуют при температуре (121±1)^{0}С в течение 20 мин.

Раствор мочевины концентрации 400 г/л: 40,0 г мочевины помещают в колбу на 100 мл, растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды, объем раствора доводят до метки дистиллированной водой.

Раствор мочевины стерилизуют фильтрацией или текучим паром в течение 30 мин.

При приготовлении среды к 950 мл основы прибавляют асептически 50 мл раствора мочевины, разливают в стерильные пробирки по 6-7 мл.

После стерилизации трехсахарный агар, агар Кристенсена с мочевиной скашивают так, чтобы оставался столбик высотой 2-2,5 см.

8.13. Полужидкий мясо-пептонный агар: готовят так же, как мясо-пептонный агар, но при приготовлении добавляют 4,0–8,0 г агара на 1000 мл мясо-пептонного бульона, перед стерилизацией среду разливают в пробирки по 6-7 мл.

8.14. Мясо-пептонный бульон с глюкозой: готовят по ГОСТ 10444.1. Для посева используют среду, разлитую в пробирки по 6-7 мл.

8.15. Бульон Хоттингера. Для посева используют среду, разлитую в пробирки по 6-7 мл.

8.16. Мясо-пептонный бульон с 0,05 % L-триптофана: 0,05 г L-триптофана растворяют в 100 мл мясо-пептонного бульона. Для посева используют среду, разлитую в пробирки по 6-7 мл, которую стерилизуют при температуре $(121\pm1)^0$С в течение 20 мин.

8.17. Среды с углеводами (среды Гисса): готовят по ГОСТ 10444.1 или используют сухие среды, которые готовят по прописи, указанной на этикетке.

9. Приготовление растворов, реактивов и сред для определения бактерий *Pseudomonas aeruginosa*

9.1. Среда Бонде: 28 г натрия лимоннокислого трехзамещенного, 15 г натрий-аммония фосфорнокислого, 10 г калия фосфорнокислого однозамещенного, 2 г магния сернокислого растворяют при нагревании в 1000 мл воды дистиллированной.

9.2. Среда Блеск

100 мл стерильного питательного агара, приготовленного из сухого препарата по прописи на этикетке, расплавляют на водяной бане. После охлаждения до температуры приблизительно 50^0С добавляют 0,3 г аргинина, 8 мл 10 % водного раствора 2,3,5-трифенилтетразолий хлорида (ТТХ), 10 мл стерильного обезжиренного теплого молока, тщательно перемешивают и разливают в чашки по 25 мл.

10. Приготовление растворов и реактивов для определения дрожжей и плесневых грибов

10.1. Приготовление растворов антибиотиков

Растворы антибиотиков готовят непосредственно перед использованием.

10.2. Раствор гентамицина сульфата массовой концентрацией 10 г/л: во флакон с 80 мг гентамицина сульфата для инъекций вносят 8 мл стерильной дистиллированной воды, содержимое флакона растворяют. Раствор добавляют к готовой основе среды.

При использовании раствора гентамицина сульфата в ампулах исходят из того, что ампула с 1 мл раствора содержит 40 мг гентамицина, а с 2 мл – 80 мг.

10.3. Раствор массовой концентрацией левомицетина сукцината растворимого 50 и 100 г/л: во флакон с 0,5 или 1,0 г левомицетина

сукцината для инъекций вносят 10 мл стерильной дистиллированной воды, содержимое флакона растворяют. Раствор добавляют к готовой основе среды.

10.4. Растворы препаратов группы пенициллина готовят из расчета содержания антибиотика 50 000 или 100 000 е.а. в 1 мл раствора:

Во флаконы с 250 000, 300 000, 500 000 е.а. антибиотика вносят соответственно 5, 6 и 10 мл стерильной дистиллированной воды, содержимое флакона растворяют, получая растворы, содержащие в 1 мл 50 000 е.а. антибиотика.

10.5. Растворы препаратов группы стрептомицина массовой концентрации антибиотика 100 г/л: во флаконы с 0,10, 0,20, 0,50 и 1 г антибиотика вносят соответственно 1, 2,5 5, 10 мл стерильной дистиллированной воды, содержимое флакона растворяют.

10.6. Раствор неомицина сульфата массовой концентрацией 50 г/л: во флакон с 0,5 г неомицина сульфата для инъекций вносят 10 мл стерильной дистиллированной воды, содержимое флакона растворяют.

10.7. Приготовление питательных сред

Питательные среды с антибиотиками готовят непосредственно перед использованием.

При приготовлении сред с антибиотиками вначале готовят основы сред. К расплавленной и охлажденной до температуры $(45\pm1)^0$С основе среды добавляют растворы антибиотиков.

10.8. Основа среда Сабуро:

40,0 г глюкозы, 18,0 г агара добавляют к 1 л дистиллированной воды. Смесь подогревают, периодически помешивая, до расплавления составных частей, охлаждают до $(45–55)^0$С, устанавливают pH таким образом, чтобы после стерилизации он составлял при 25^0С 6,5±0,1, разливают во флаконы и стерилизуют 15 мин при температуре $(121\pm1)^0$С. Основу хранят при температуре $(4\pm2)^0$С не более 14 сут.

10.9. Среда агаризованная с левомицетином: к 1 л основы добавляют 2 мл раствора левомицетина сукцината растворимого для инъекций массовой концентрацией 50 г/л или 1 мл раствора левомицетина сукцината растворимого для инъекций массовой концентрацией 100 г/л. При использовании раствора левомицетина массовой концентрации 5 г/л к 980 мл основы добавляют 20 мл раствора.

10.10. Среда агаризованная с антибиотиками группы пенициллина и стрептомицина: к 1 л основы добавляют 1 мл или 0,5 мл раствора антибиотика группы пенициллина, содержащего соответственно 50 000 ли 100 000 е.а., затем к среде добавляют 0,4 мл раствора антибиотика группы стрептомицина массовой концентрации 100 г/л.

10.11. Среда агаризованная с неомицин сульфатом: к 1 л основы добавляют 7 мл раствора неомицин сульфата массовой концентрацией 50 г/л.

ГЛАВА 4
ПРОВЕДЕНИЕ ИСПЫТАНИЙ

11. Определение мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

Метод основан на высеве пробы воды и (или) ее разведений в агаризованную питательную среду, инкубировании посевов, подсчете выросших колоний.

В 1 мл образца определяется содержание мезофильных аэробных и факультативно-аэробных микроорганизмов, выросших на питательном агаре за (72±3) ч при температуре (30±1)^{0}С в аэробных условиях.

Из каждой пробы воды делается посев исходного образца или его разведений с таким расчетом, чтобы на чашках выросло от 30 до 300 колоний. Вносят по 1 мл образца или разведения параллельно в две чашки Петри и заливают расплавленным и остуженным 45^{0}С мясопептонным агаром в количестве 10-12 мл. Образец быстро смешивают с агаром, наклоняя или вращая чашку по поверхности стола. После застывания агара чашки помещают в термостат и инкубируют при температуре (30±1)^{0}С в течение (72±3)ч.

Оценивают те разведения, при посеве которых на чашке выросло от 30 до 300 колоний. При посеве 1 мл неразведенной пробы учитывают любое количество колоний, не превышающее 300. Результат выражают в числе колоний в 1 мл исходного образца, с учетом результатов разведений.

Если в чашке с наиболее высоким разведением выросло более 300 колоний и анализ нельзя повторить, то допустимо вести подсчет с помощью счетной пластинки, разделенной на квадраты, или трафарета, делящего чашку на сектора. Подсчитывают не менее ¼ площади чашки в разных местах с последующим пересчетом на всю площадь чашки. Если рост подвижных бактерий распространяется на всю поверхность чашки, в протоколе отмечают «Ползучий рост».

12. Выявление бактерий группы кишечных палочек

12.1. Метод мембранных фильтров

Метод заключается в концентрировании бактерий из определенного объема анализируемой воды на мембранном фильтре с последующим культивированием на селективной среде, с идентификацией и учетом выросших бактерий.

Фильтруют необходимый объем воды, фильтр после окончания промывают 2-3 мл стерильной водопроводной или дистиллированной

воды. Если фильтруется вода с общей минерализацией 4 г/м^3 и выше, то мембранный фильтр промывают дважды 5 мл стерильной водопроводной или дистиллированной воды. После окончания фильтрования фильтр переносят на поверхность чашки Петри со средой Эндо, сохраняя его положение при фильтрации. Чашки с фильтрами помещают в термостат и инкубируют при 37^{0}С в течение 18-24 ч. Далее проводится идентификация выросших бактерий по 12.3 данной Инструкции.

12.2. Титрационный метод

Сущность титрационного метода заключается в посеве определенных объемов анализируемой воды и культивирование при 37^{0}С в средах накопления с последующим посевом бактерий на агаризованные питательные среды и дифференцирование выросших бактерий. Анализируются параллельно три объема воды по 100 мл, три объема воды по 10 мл и три объема по 1 мл. Посев 100 мл и 10 мл воды производится во флаконы с 10 мл и 1 мл концентрированной среды ЛПС, соответственно. Посев 1 мл воды в пробирки с 10 мл среды ЛПС нормальной концентрации. Инкубируют посевы при 37^{0}С в течение 24 ч.

Из всех объемов, где отмечено образование кислоты и газа, производят посев на плотную питательную среду Эндо. Идентификацию проводят по 12.3 данной Инструкции.

12.3. Идентификация бактерий для отнесения их к группе кишечных палочек

Бактерий группы кишечных палочек – грамотрицательные, не образующие спор палочки, ферментирующие лактозу с образованием кислоты и газа в течение 24-32 ч при 37^{0}С, с отрицательным оксидазным тестом. Относятся к семейству *Enterobacteriaceae* и следующим основным родам: *Escherichia, Klebsiella, Citrobacter, Enterobacter* и др.

У лактозоположительных колоний образуется на среде Эндо редукционная зона, которая проявляется красным окрашиванием агара под колонией и вокруг нее. При наличии характерных для кишечной палочки темно-красных колоний с металлическим блеском и без него, а также розовых (лактозоположительных колоний) из нескольких колоний каждого типа готовят мазки, а также проверяют оксидазную активность, окрашивают по Граму и микроскопируют:

- на обезжиренное спиртом предметное стекло наносят петлей 1 каплю дистиллированной воды, вносят небольшое количество культуры из анализируемой колонии и распределяют ее по поверхности стекла;

- мазок высушивают при комнатной температуре и фиксируют трехкратным проведением через пламя горелки;

- на препарат накладывают полоску фильтровальной бумаги и на нее наливают раствор кристаллического фиолетового, через 0,5-1,0 мин бумагу снимают;

- наливают раствор Люголя на 0,5-1,0 минуту, затем сливают его и промывают стекло обесцвечивающей жидкостью, пока не перестанет отходить краситель (15-30 сек);

- стекло тщательно промывают водой и докрашивают в течение 1-2 мин раствором фуксина или сафранина;

- стекло промывают и просушивают фильтровальной бумагой;

- препарат микроскопируют с иммерсионной системой.

Грамотрицательные микроорганизмы имеют розовую окраску, грамположительные окрашиваются в сине-фиолетовый цвет, колиформные бактерии являются грамотрицательными палочками.

Постановка оксидазного теста. Полоску фильтровальной бумаги помещают в чистую чашку Петри и смачивают 2-3 каплями реактива для оксидазного теста. Готовые бумажные системы смачивают дистиллированной водой. Часть изолированной колонии стеклянной палочкой или платиновой петлей (металлическая петля из нихрома может дать ложноположительную реакцию) наносят штрихом на подготовленную фильтровальную бумагу. Реакция считается положительной, если в течение 1 мин появляется синее окрашивание штриха. При отрицательной реакции цвет в месте нанесения культуры не меняется. При положительном результате эту колонию при дальнейшем исследовании исключают.

Грамотрицательные и оксидазоотрицательные колонии по 2-3 каждого типа пересеивают в полужидкую среду с лактозой. Учет проводят через 4-5 ч инкубации при 37^0С. При образовании кислоты и газа результат анализа считают положительным. При наличии только кислоты пробирки оставляют в термостате для окончания учета через 24 ч. Анализ заканчивается через 24-48 ч. При отсутствии газообразования через 24 ч получают окончательный отрицательный ответ, при наличии газообразования – положительный.

Для подтверждения способности бактерий ферментировать лактозу можно использовать лактозо-пептонную среду накопления с поплавками или комочками ваты. Учет результатов в этом случае следует проводить через 24 ч.

Результат формулируют: бактерии группы кишечных палочек не обнаружены (обнаружены) в 100 мл воды.

13. Выявление бактерий *Pseudomonas aeruginosa* в определенном объеме воды

Исследуют пробу воды объемом 100 мл. В емкость добавляют 10 мл среды Бонде, тщательно перемешивают и инкубируют при температуре при 37^0С в течение 24-48 ч.

Возможно проводить фильтрацию исследуемых объемов воды и осуществлять посев фильтров в 50 мл среды Бонде.

Через 24ч просматривают посевы. При наличии роста *Pseudomonas aeruginosa* происходит помутнение среды Бонде и на поверхности появляется тонкая прозрачная пленка, часто поднимающаяся по стенке емкости. В журнале отмечают помутнение среды и наличие пленки.

Для подтверждения *Pseudomonas aeruginosa* делают посев на среду Блеск. Емкость перед посевом не следует взбалтывать. Петлей забирают пленку и делают посев штрихом для получения изолированных колоний по 3-4 из каждой емкости. Посев в идее бляшки: делают укол петлей до дна чашки и затем растирают небольшую площадку вокруг укола по поверхности среды. Допустимо делать посев нескольких проб на секторах одной чашки. Посевы со средой Блеск инкубируют при 37^0С в течение 24 ч.

Емкости со средой Бонде оставляют в термостате еще на 24 ч для окончательного учета.

Через 24 ч отмечают характер роста на среде Блеск. При наличии в пробе *Pseudomonas aeruginosa* на среде Блеск вырастают темно-красные колонии с золотистым блеском или золотистыми вкраплениями на бляшках. Появление блеска можно наблюдать уже через 20-22 ч инкубации при 37^0С, но максимального развития реакция достигает через 42-44 ч.

Если на среде Блеск не отмечено роста или выросли колонии темно-красные, темно-вишневые, но без характерного блеска, то из емкостей, где отмечено помутнение или помутнение с пленкой, высев следует проводить через 48 ч.

При отсутствии роста в среде Бонде через 24 ч пробу инкубируют до 48 ч и в случае помутнения и образования пленки подтверждают *Pseudomonas aeruginosa*, как описано выше.

Подтвердить наличие Pseudomonas aeruginosa также можно путем посева подозрительной изолированной колонии на косяк с питательным агаром, на котором через 24 ч инкубации при температуре 37^0С в случае положительной реакции появляется синий, сине-зеленый пигмент. Пигментация может усиливаться при последующем выдерживании косяка на свету при комнатной температуре.

Отрицательный ответ выдают:

- при отсутствии признаков роста в посевах пробы в среде Бонде;
- при отсутствии признаков роста на среде Блеск;
- пи росте на среде Блеск не характерных для Pseudomonas aeruginosa колоний без блеска.

Результат формулируют: *Pseudomonas aeruginosa* не обнаружена в 100 мл воды.

Положительный ответ выдают:

- при росте на среде Блеск темно-окрашенных колоний с золотистым блеском;

- при образовании характерного пигмента на питательном агаре.

При четкой реакции на среде Бонде (муть и пленка) и среде Блеск наличие пигмента определять не обязательно.

Результат формулируют: *Pseudomonas aeruginosa* обнаружена в 100 мл воды.

14. Выявление бактерий рода *Salmonella*

Принцип метода. Из минеральных вод бактерий рода *Salmonella* выделяют с помощью посева на среды обогащения. Пробы воды фильтруют через мембранный фильтр для концентрации микроорганизмов, затем эти фильтры вносят в среду предварительного обогащения или в селективную среду обогащения. Предварительное обогащение может способствовать выявлению ослабленных сальмонелл.

Необходимый объем воды фильтруют через один или несколько мембранных фильтров.

Для предварительного обогащения фильтр или фильтры вносят в 20-100 мл забуференной пептонной воды. Посевы инкубируют 16-20 ч при 37^0С.

Пробу после предварительного обогащения засевают в две среды для селективного обогащения в отношении 1:10 (например, к 100 мл среды обогащения прибавляют 10 мл пробы после предварительного обогащения). Для этого используют две среды: магниевую среду и тетратионатную среду или селенитовую и тетратионатную среды.

Посевы инкубируют в течение 24-48 ч на магниевой и селенитовой средах при температуре $(36\pm1)^0$С, а на тетратионатной среде – при температуре $(43\pm1)^0$С.

Для выделения и идентификация культур на агаризованных дифференциально-диагностических средах культуры через 24 и 48 ч инкубирования пересевают на три агаризованные среды: висмут-сульфит агар, среду Плоскирева и среду Эндо (или среду Левина). Допускается использование одной чашки каждой из сред для одновременного высева с двух селективных сред.

Посевы инкубируют при температуре $(36\pm1)^0$С, в течение 24-48 ч.

После 24 ч инкубации посевов проводят предварительный учет результатов, а после 48 ч – окончательный.

После инкубирования посевов отмечают на дифференциально-диагностических средах рост колоний, характерных для бактерий рода *Salmonella*:

- на висмут-сульфит агаре колонии черные с характерным металлическим блеском, а также зеленоватые с темно-зеленым ободком и с пигментированием среды под колониями;

- на среде Плоскирева колонии бесцветные прозрачные, но более плотные, чем на среде Эндо;

- на среде Эндо колонии круглые бесцветные или слегка розоватые, прозрачные;

- на среде Левина колонии прозрачные, слабо-розовые или розовато-фиолетовые.

При отсутствии в посевах на дифференциально-диагностических средах характерных для бактерий рода *Salmonella* колоний дают заключение об отсутствии бактерий рода *Salmonella* в анализируемом объеме продукта.

При наличии хотя бы на одной дифференциально-диагностической среде характерных для бактерий рода *Salmonella* колоний проводят их дальнейшее изучение.

14.1 Для биохимического подтверждения принадлежности выделенных характерных колоний к бактериям рода Salmonella не менее трех характерных колоний с каждой дифференциально-диагностической среды пересевают на скошенную поверхность мясо-пептонного агара или среды из сухого питательного агара, и часть колоний пересевают штрихом на поверхности и уколом в столбик трехсахарного агара. Посевы инкубируют при температуре $(36\pm1)^0$С, в течение 24 ч.

Из отобранных для биохимического подтверждения колоний приготовляют мазки и окрашивают по Граму и микроскопируют:

- на обезжиренное спиртом предметное стекло наносят петлей 1 каплю дистиллированной воды, вносят небольшое количество культуры из анализируемой колонии и распределяют ее по поверхности стекла;

- мазок высушивают при комнатной температуре и фиксируют трехкратным проведением через пламя горелки;

- на препарат накладывают полоску фильтровальной бумаги и на нее наливают раствор кристаллического фиолетового, через 0,5-1,0 мин бумагу снимают;

- наливают раствор Люголя на 0,5-1,0 мин, затем сливают его и промывают стекло обесцвечивающей жидкостью, пока не перестанет отходить краситель (15-30 сек);

- стекло тщательно промывают водой и докрашивают в течение 1-2 мин раствором фуксина или сафранина;

- стекло промывают и просушивают фильтровальной бумагой;

- препарат микроскопируют с иммерсионной системой.

Грамотрицательные микроорганизмы имеют розовую окраску, грамположительные окрашиваются в сине-фиолетовый цвет, колиформные бактерии являются грамотрицательными палочками.

Бактерии рода *Salmonella* являются грамотрицательными палочками с закругленными концами.

После инкубации посевов проводят учет результатов ферментации лактозы, глюкозы и сахарозы на трехсахарном агаре:

-пожелтение скошенной части среды указывает на ферментацию лактозы или сахарозы или обоих сахаров;

- пожелтение столбика среды с разрывом агара или пузырьками газа указывает на ферментацию глюкозы с образованием газа, пожелтение столбика среды без разрывов или пузырьков указывает на ферментацию глюкозы без образования газа;

- почернение среды в столбике указывает на образование сероводорода.

Типичными для бактерий рода *Salmonella* являются культуры, ферментирующие глюкозу с образованием или без образования газа, не ферментирующие лактозу и сахарозу, образующие сероводород.

Дальнейшему изучению подвергают также лактозоположительные бактерии или бактерии, не образующие сероводород, но обязательно ферментирующие глюкозу с образованием или без образования газа.

У культур изучают возможность расщепления мочевины, образования ацетоина и индола, ферментации сахарозы и маннита и подвижность.

Для определения расщепления мочевины культуры пересевают штрихом на поверхность агара Кристенсена с мочевиной.

Посевы инкубируют при температуре $(36\pm1)^0$С в течение 24 ч.

При положительной реакции – расщепление мочевины цвет среды от розового до светло-вишневого. Для уреазаположительных бактерий реакция часто становится видимой после 2 ч инкубирования.

Бактерии рода *Salmonella* не расщепляют мочевину.

Для определения образования ацетоина (реакция Фогес-Проскауэра) культуры пересевают в мясо-пептонный бульон с глюкозой. Посевы инкубируют при температуре $(36\pm1)^0$С в течение 48 ч. После инкубирования к 1 мл отобранной культуральной жидкости прибавляют 0,6 мл раствора α-нафтола, и 0,2 мл раствора гидроокиси калия концентрации 400 г/мл. После прибавления каждого реактива пробирку встряхивают. Появление розового окрашивания через 15 мин указывает на положительную реакцию.

Бактерии рода *Salmonella* не образуют ацетоина (реакция Фогес-Проскауэра отрицательная).

Для определение образования индола культуры пересевают в бульон Хоттингера, или в мясо-пептонный бульон с L-триптофаном. Посевы инкубируют при температуре $(36\pm1)^0$С в течение 24 ч. После инкубирования к посевам прибавляют по 1 мл реактива Эрлиха или Ковача.

Образование красного слоя указывает на положительную реакцию.

Бактерии рода *Salmonella* не образуют индол.

Для определение ферментации маннита и сахарозы культуры пересевают в среды Гисса с маннитом или сахарозой. Посевы инкубируют при температуре $(36\pm1)^0$С в течение 24 ч.

Бактерии рода *Salmonella* не сбраживают сахарозу и маннит.

При сбраживании маннита и сахарозы цвет среды изменяется, образуется или не образуется газ.

Для определения подвижности культуры пересевают уколом в полужидкий мясо-пептонный агар. Посевы инкубируют при температуре $(36\pm1)^0$С в течение 24 ч.

При росте подвижных культур отмечается диффузный рост по всему столбику агара, при росте неподвижных культур – вдоль места укола.

Большинство штаммов бактерий рода *Salmonella* подвижны.

Результаты биохимического подтверждения культу оценивают, пользуясь таблицей приложения 1.

14.2. Серологическое подтверждение принадлежности культур к бактериям рода *Salmonella*

Серологическое подтверждение принадлежности культур к бактериям рода *Salmonella* проводят с культурами, давшими типичные биохимические реакции согласно приложению 1, и предварительно пересеянными на поверхность мясо-пептонного агара или среды, приготовленной из сухого питательного агара.

Для определения самоагглютинирующих штаммов помещают каплю физиологического раствора на тщательно очищенное предметное стекло. Диспергируют в этой капле часть тестируемой колонии так, чтобы получилась гомогенная и густая суспензия.

Покачивают осторожно стекло в течение 30-60 сек. Отмечают результаты на темном фоне, лучше с помощью увеличительного стекла. Если наблюдается в разной степени склеивание бактерий, то есть образование осадка, то считают, что тестируемые штаммы обладают самоагглютинацией.

Штаммы бактерий, обладающие самоагглютинацией, не подвергают дальнейшей серологической идентификации.

Для определение наличия 0-антигенов штаммы, у которых не выявлено самоагглютинации, испытывают в реакции агглютинации с агглютинирующими адсорбированными поливалентными сыворотками основных групп *А, В, С, Д, Е*, а затем, если не выявлено 0-антигенов с сыворотками основных групп, ставят реакцию с сыворотками редких групп.

Подготовка сывороток к постановке реакции агглютинации и методика ее проведения указаны в наставлении, прилагаемом к сывороткам.

Агглютинация (наличие 0-антигенов) проявляется в идее склеивания бактериальной массы и полного или частичного просветления жидкости.

При отрицательной реакции агглютинации культура после тщательного смешивания с каплей сыворотки образует гомогенную смесь.

При определении биохимических и серологических характеристик выделенных культур в качестве контроля используют типичный по этим показателям штамм бактериям рода *Salmonella* по п. 5.5 главы 3 настоящей Инструкции.

14.3. Оценка результатов

Результаты оценивают по каждой пробе отдельно.

Интерпретация биохимических и серологических испытаний

Культуры, показавшие типичные биохимические и серологические реакции, относят к бактериям рода *Salmonella.*

Предположительно к бактериям рода *Salmonella* относят:

- культуры, у которых не обнаружено самоагглютинации и 0-антигенов, но показавшие типичные биохимические реакции;

- культуры, у которых обнаружена самоагглютинация и типичные биохимические реакции.

Культуры, у которых не обнаружено самоагглютинации, не давшие типичных биохимических и серологических реакций, не относят к бактериям рода *Salmonella.*

Результаты выявления бактерий рода *Salmonella* в определенном объеме воды записывают «бактерий рода *Salmonella* обнаружены в Х мл» или «бактерий рода *Salmonella* не обнаружены в Х мл».

Х- объем минеральной воды, в которой выявляли бактерии рода *Salmonella.*

15. Определение дрожжей и плесневых грибов

Метод основан на высеве образца воды или его разведений в питательные среды, определении принадлежности выделенных микроорганизмов к плесневым грибам и дрожжам по характерному росту на питательных средах и по морфологии клеток.

Из подготовленной пробы воды и(или) его разведения отбирают 1 мл и высевают параллельно в две чашки Петри. Посевы заливают 15-20 мл расплавленной и охлажденной до $(45\pm1)^0$С средой Сабуро с антибиотиком по 10.9–10.11 настоящей Инструкции. Посевы термостатируют при температуре $(24\pm1)^0$С в течение 5 сут.

Через 3 суток термостатирования проводят предварительный учет типичных колоний.

Если в посевах на агаризованных средах присутствуют мукоровые, очень быстро растущие грибы, то снятие предварительных результатов нужно проводить очень осторожно, не допуская того, чтобы споры этих грибов осыпались и дали рост вторичных колоний.

Через 5 суток проводят окончательный учет результатов термостатирования посевов. Колонии дрожжей и плесневых грибов разделяют визуально.

Рост дрожжей на агаризованных средах сопровождается образованием крупных, выпуклых, блестящих, серовато-белых колоний с гладкой поверхностью и ровным краем.

Развитие плесневых грибов на питательных средах сопровождаются появлением мицелия различной окраски.

Для количественного учета отбирают чашки, на которых выросло от 15 до 150 колоний дрожжей и (или) от 5 до 50 колоний плесневых грибов.

При необходимости для разделения колоний дрожжей и плесневых грибов проводят микроскопические исследования. Для каждого из отдельных колоний готовят препараты методом раздавленной капли. На предметное стекло наносят каплю стерильной дистиллированной воды. Затем в эту каплю прокаленной петлей вносится часть колонии. Полученная суспензия покрывается покровным стеклом.

Результаты микрокопирования оценивают, пользуясь характеристикой дрожжей и плесневых грибов, указанной в приложении 2.

Обработка результатов.

Результаты оценивают по каждой пробе отдельно для дрожжей и плесневых грибов.

Количество дрожжей и плесневых грибов в 1 мл воды вычисляют по формуле:

$$x = \frac{\Sigma C}{n_1 + n_2 x 0{,}1} x 10^n$$

где ΣC - сумма всех подсчитанных колоний на чашках Петри в двух последовательных десятикратных разведениях;

n_1 – количество чашек Петри, подсчитанное для меньшего разведения;

n_2 – количество чашек Петри, подсчитанное для большего разведения;

n – степень разведения продукта (для меньшего разведения).

Приложение 1
к Инструкции по применению
«Методы санитарно-микробиологического контроля минеральных вод»

Биохимическая характеристика четырех подродов *Salmonella* и атипичных видов, входящих в подрод *Salmonella I*

Наименование биохимических характеристик	*Salmonella I*	*Salmonella II*	*Salmonella III-Arizona*	*Salmonella IV*	*Salmonella choleraesuis*	*Salmonella gallinarum*	*Salmonella Paratyphi A*	*Salmonella pullorum*	*Salmonella typal*
Образование индола	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Образование ацетоина	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Образование сероводорода на трехслойном агаре	+	+	+	+	d	+	+	+	+
Расщепление мочевины	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Подвижность	+	+	+	+	d	-	+	-	+
Сбраживание глюкозы с образованием газа	+	+	+	+	+	-	+	(+)	-
Сбраживание глюкозы с образованием кислоты	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Сбраживание лактозы	-	-	d	-	-	-	-	-	-
Сбраживание сахарозы	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Сбраживание маннита	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Условные обозначения: «+» - 90-100% штаммов положительны;
«d» - 26-75% штаммов положительны; «-» - 0-10% штаммов положительны.

Приложение 2
к Инструкции по применению
«Методы санитарно-
микробиологического контроля
минеральных вод»

Характеристика дрожжей и плесневых грибов

Группа микроорганизмов	Характеристика
Дрожжи	Одноклеточные микроорганизмы, клетки круглой, овальной или продолговатой формы, длиной от 2,5 до 30 мкм и шириной от 2,5 до 10 мкм, часто почкующиеся.
Плесневые грибы	Состоят из нитей-гифов, без перегородок или септированных на клетки. Гифы образуют боковые выросты и разветвления, от вегетативных гифов поднимаются гифы, несущие плодовые тела.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Инструкция по применению
«Методы санитарно-микробиологического контроля минеральных вод»

	стр.
Глава 1 Назначение и область применения.....	2
Глава 2 Отбор и подготовка проб.....	2
Глава 3 Аппаратура, расходные материалы, питательные среды.....	2
Глава 4 Проведение испытаний.....	14
Приложение 1. Биохимическая характеристика четырех подродов *Salmonella* и атипичных видов, входящих в подрод *Salmonella I.*	24
Приложение 2. Характеристика дрожжей и плесневых грибов.....	25
Информационные данные.....	27

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. Настоящая Инструкция разработана сотрудниками ГУ «Республиканский научно-практический центр гигиены» Министерства здравоохранения Республики Беларусь (В.П. Филонов, И.А. Застенская, И.П. Щербинская, Л.А. Мельникова, Н.В. Дудчик, Т.С. Трешкова, О.Е. Шедикова, С.А. Янецкая, В.В. Трейлиб).

2. Утверждена Главным государственным санитарным врачом Республики Беларусь 19 марта 2010 г., регистрационный номер № 072-0210.

3. Введена впервые.

gost.e-ecolog.ru